

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number: **58077663 A**(43)Date of publication of
application: **11. 05 . 83**

(51)Int. Cl

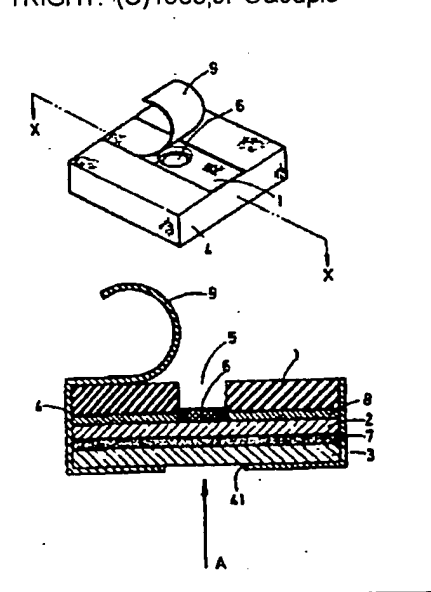
**G01N 33/62
C12Q 1/58**(21)Application number: **56177660**(22)Date of filing: **02 . 11 . 81**(71)Applicant: **KYOTO DAIICHI KAGAKU:KK**(72)Inventor: **FUJIOKA SHIGERU
YAMAO YASUO
TAKAHASHI YOSHINORI****(54)METHOD AND IMPELMENT FOR ANALYSIS
OF UREA****(57)Abstract:**

PURPOSE: To detect the urea in body fluid quickly and accurately irrespectively of the kinds of sample liquid by hydrolyzing the urea in the sample to gaseous ammonia with an enzyme system exhibiting urease activity and conducting said ammonia to an indicator layer.

CONSTITUTION: A self-adhesive tape as a sealer 9 is stripped along scores, and a sample is dropped onto a tablet 6 consisting of an absorptive carrier contained in a sample hole 5. The hole is immediately sealed tightly with the self-adhesive tape. The absorptive carrier absorbs the reagent and the urea in the sample is hydrolyzed to gaseous ammonia by the urease impregnated beforehand in the absorptive carrier. The gaseous ammonia and steam generated by the hydrolysis pass through a gas permeable membrane 2. The gaseous ammonia contacts with a reagent layer 7 provided on the transparent carrier 3 in succession, then the layer 7 discolors in

accordance with the fluctuations in pH by the gaseous ammonia. Thus if the discoloration of the layer 7 is measured through a hole 41 for measuring window provided in a single-coated self-adhesive tape 4, the quantity of the urea in the sample is measured.

COPYRIGHT: (C)1983,JPO&Japio



METHOD AND IMPLEMENT FOR ANALYSIS OF UREA

Patent Number: JP58077663
Publication date: 1983-05-11
Inventor(s): FUJIOKA SHIGERU; others: 02
Applicant(s): KIYOUTO DAIICHI KAGAKU:KK
Requested Patent: ☒ JP58077663
Application Number: JP19810177660 19811102
Priority Number(s):
IPC Classification: G01N33/62; C12Q1/58
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PURPOSE: To detect the urea in body fluid quickly and accurately irrespective of the kinds of sample liquid by hydrolyzing the urea in the sample to gaseous ammonia with an enzyme system exhibiting urease activity and conducting said ammonia to an indicator layer.

CONSTITUTION: A self-adhesive tape as a sealer 9 is stripped along scores, and a sample is dropped onto a tablet 6 consisting of an absorptive carrier contained in a sample hole 5. The hole is immediately sealed tightly with the self-adhesive tape. The absorptive carrier absorbs the reagent and the urea in the sample is hydrolyzed to gaseous ammonia by the urease impregnated beforehand in the absorptive carrier. The gaseous ammonia and steam generated by the hydrolysis pass through a gas permeable membrane 2. The gaseous ammonia contacts with a reagent layer 7 provided on the transparent carrier 3 in succession, then the layer 7 discolors in accordance with the fluctuations in pH by the gaseous ammonia. Thus if the discoloration of the layer 7 is measured through a hole 41 for measuring window provided in a single-coated self-adhesive tape 4, the quantity of the urea in the sample is measured.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58-77663

⑤ Int. Cl.³
G 01 N 33/62
C 12 Q 1/58

識別記号

庁内整理番号
6422-2G
6543-4B

④ 公開 昭和58年(1983)5月11日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 8 頁)

⑭ 尿素分析方法および分析用具

① 特 願 昭56-177660

② 出 願 昭56(1981)11月2日

③ 発 明 者 藤岡茂

大津市別保三丁目3番1号

④ 発 明 者 山尾泰生

京都市山科区大宅五反畑町1番

地の12

⑤ 発 明 者 高橋好範

福井市春日一丁目15-4

⑥ 出 願 人 株式会社京都第一科学

京都市南区東九条西明田町57番
地

⑦ 代 理 人 弁理士 永田久喜

明 細 書

1. 発明の名称

尿素分析方法および分析用具

2. 特許請求の範囲

1. 気密に保てる試料穴中で、試料中の尿素をウレアーゼ活性を示す酵素系により加水分解し、生成した炭酸アンモニウムをアルカリ条件下でアンモニアガスとなし、これをガス透過性の膜を通して指示薬層に導き、アンモニアガスによる pH 変動に対応する指示薬の变色に基づき尿素濃度を測定することを特徴とする尿素分析方法。

2. 試料穴を有するプレート、該プレートに密着するガス透過性の膜、該膜に密着ないし近接して配置され、該膜側にアンモニアガスによる pH 変動に対応して变色をきたす指示薬層を設けた透明な担体からなるシート、上記試料穴を密封する装置、試料穴中に備えたウレアーゼ活性を示す酵素と pH をアルカリ性に保持する緩衝剤系とから構成されることを

特徴とする尿素分析用具。

3. 試料穴密封装置として粘着テープを用い、且つ該粘着テープの延長部で全体を包囲してなる特許請求の範囲第2項記載の尿素分析用具。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、液体試料、特に血液、血清、血漿、唾液などの体液中の尿素を、試料液の種類にかかわらず迅速、正確且つ精密に定量する方法およびその分析用具に関するものである。

尿素は人体における蛋白質代謝の反応主生成物であり、尿素の濃度は腎機能の指標となるし、毒性物質は尿素の濃度合いに概ね比例して血液中に含まれるので、高濃度の血中尿素は、医師にとって診断上重要な指標となる。

通常、血中の尿素濃度は $15 \sim 40 \text{ mg/dl}$ であるが、この範囲を超えた場合腎臓病または尿道管障害が考えられる。例えば急性腎炎では尿素濃度が $80 \sim 300 \text{ mg/dl}$ まで増加し、腎盂腎炎、悪化した腎硬化症、腎結核、中枢性腎臓死、悪性腎臓病

腎性化膿、慢性疾患等の腎機能の実質的な破壊が広がる際にも高濃度の尿素が検出される。

このように尿素濃度を知ることは臨床的見地から極めて重要であり、クレアゼインドフェノール法、クレアゼネスラー法、クレアゼ拡散法、ジアセチルモノオキシム法などの臨床化学的方法が確立されている。しかし、これらの方法は正確である反面、①多量の検体(1~数ml)を要する、②検量線をその度毎に作成しなければならない、③分析に長時間を要する、④特殊な分析装置を必要とする、⑤毒劇物を使用するなど多くの欠点を有している。

そこで、これらの欠点を是正し手軽に測定するための測定具がいくつか開発されている。

例えば米国マイルス社より発売されているアソステイクス(商品名)で知られる試験紙がある。これは濾紙の細片にクレアゼと緩衝剤を含浸させてあり、全血の1滴を塗布して、1分間反応を待つて全血中の赤い血球成分を水洗除去し、裏面に呈した色調をあらかじめ作成された標準比色板

を用いて肉眼判定して血中の尿素濃度を大まかに知るものである。この試験具は上記の欠点を是正しているものの、検体が全血に限られており、かつ、その全血のヘマトクリット値に測定結果が大きく影響を受け、さらに血球成分を水洗除去したのちはただちに呈色度が早急に低下するなどの分析の精密^{正確}さに重大な欠点を有している。

次に、特公昭50-1619号明細書には、強酸性イオン交換樹脂とパラジメチルシンナムアルデヒドを吸着性担体に含浸させた試験片に血清を滴下すると、試料中の尿素とパラジメチルシンナムアルデヒドが反応して生じる青色化合物による呈色を目視判定する組成物が開示されている。これは試料が血清又は血漿に限られていること、試料自体のpH・緩衝能・色調に測定値が影響され、さらにクレアゼを使用していないため尿素に対する特異性に乏しく、試料中の代謝物や薬剤に測定値が影響されるなどの欠点を有している。

更に特開昭54-151096号明細書には、全血あるいは血清を測定試料とする、クレアゼと緩

衝剤を含む反応系と指示薬系の間にネット又はフォイルを設けた診断用具が開示されている。しかし、この診断用具は反応系の一部が開口しているために生成したアンモニアは大気中に一部飛散するので、診断用具付近の空気の動きに測定結果が影響されることは否めない。また、血清と全血とでは反応速度が異なるので検量線が2種類必要になるなど使いづらいものである。

尚、上記各測定具はいずれも血液あるいはその一成分を測定に用いるものであるが、同様に尿素を含みしかも採取しやすい唾液については用い難いものである。これは唾液の反応速度が全血よりも更に遅く、測定感度や誤差の点で実用性が得られないことによる。

本発明は上記に鑑みなされたもので、その第1の目的とするところは、従来技術の欠点を有さない微量の検体を用いて迅速・簡易・精密・正確な尿素分析方法と、安定で安価に製造できる実用的な尿素分析用具を提供することにある。また第2の目的は、腎機能の指標となる唾液、血清、血漿、

全血中の尿素濃度の測定に対して、あらゆる試料中の濃度を、同一の分析用具で、同一手技で測定する手段を提供することにある。特に唾液中の尿素濃度は血中尿素濃度と相関することが奥田清著「小児の臨床検査増刊号」(21 1179(1977))で明らかにされている現状において、最も採取しやすい唾液を用いて腎機能の診断をする方法と診断用具を提供することは意義が大きい。

そして本発明者等は、この目的を達成するために、気密に保てる試料穴中で、試料中の尿素をクレアゼ活性を示す酵素系により加水分解し、生成した炭酸アンモニウムをアルカリ性条件下でアンモニアガスとなし、これをガス透過性の膜を通して指示薬層に導き、アンモニアガスによるpH変動に対応する指示薬の変色により尿素を分析する方法及び該方法に基づく分析用具を開発した。

以下、本発明を詳細に説明する。

まず、この分析用具は、図面(第1図~第3図)にその1例を示すように(後で詳述)、試料穴(透孔)IIを有するプレートII、被プレートIIIに

密着するガス透過性の膜(2)、該膜(2)に近接して配置され該膜(2)にアンモニアガスによる pH 変動に対応して変色をきたす指示薬層(1)を設けた透明な担体(3)からなるシート、上記試料穴(4)を密封する装置から構成され、且つ試料穴(4)中にはウレアーゼ活性を示す酵素系とアルカリ性 pH を保持する緩衝剤系を含み、更に上記指示薬層(1)は一種以上の pH 指示薬系からなるものである。

そして、この分析用具の試料穴(4)中に一定量の試料(血液、唾液等の体液その他の液体試料)を添加し、直ちに試料穴(4)を密封して試料中の尿素が酵素系により加水分解されるのに必要な短時間を持てば、尿素量に応じた指示薬系の変色が透明な担体(3)上に現われ、これを観察することによって尿素濃度を求めることができる。

次に、分析用具を構成する部材につき説明する。

まず試料穴(4)を有するプレート(1)は、ガスが通過しない緻密な厚い材料であれば何んでも良いが、加工性・経費性からポリスチレン、ポリエチレン、ポリエステル等のプラスチックが好適である。ガ

ス透過性の膜(2)はアンモニアガスのような気体や水蒸気は通過させるが液体及び固体は通過させない薄膜であれば何でもよく、ポリエチレン、ポリプロピレン、四フッ化エチレン等の合成樹脂製薄膜が実用的な例として挙げられる。指示薬系の担体(3)としては透明なシート状の材料であれば特に制限はないが、ガラス板、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリスチレンシート等が安価で、入手しやすいため好んで用いられる。密封装置は試料穴(4)中で発生するアンモニアガスに漏れないゴムやプラスチックからなる径でもよいが、実用上粘着テープが最適である。

次に分析反応系に用いられる試薬系について説明する。試料穴(4)中のウレアーゼ活性を示す酵素系は、一般に酵素標品として純化されたウレアーゼが好適であるが、ウレアーゼ活性を示すものであれば特に純化される必要はない。また、試料穴(4)中にウレアーゼとともに使用される緩衝剤系は pH をアルカリに保持するもの(pH 7~10の範囲)であればどれも使用できるが、7に近づくと

活性が低くなり高すぎると不安定になるので好ましくは7.2~9.5、特に好適な pH 範囲は7.5~9.0である。そして、具体例としてホウ酸-ホウ砂、炭酸ナトリウム-重炭酸ナトリウム、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン-水酸化ナトリウム等が挙げられる。この試料穴中に存在するウレアーゼ活性を示す酵素系と緩衝剤系はそれぞれを原材料の形態そのまま又はその水溶液として、使用してもよいが、取扱上や製造上の便利さから錠剤や濾紙のような吸収性担体に含浸させて乾燥させた形態で使用するのが好ましい。錠剤または吸収性担体含浸形態で使用する場合は、試料穴中に滴下された試料がこれらによく浸透するようポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、グリセリン等の潤滑剤やIrisol X-100、Tween 20、スパン80、ラウリル硫酸ナトリウム等の界面活性剤を加えることができる。また、発生したガスが膜(2)を透過するのを防がない状態で穴(4)中に固定することもできる。次に、 pH 指示薬系は pH の変動に対して変色するものであれば微量の pH 調定

剤を使用することによりどれも使用でき、所望により pH 調定剤としてマロン酸、フタル酸、酒石酸、クエン酸、オルトリン酸のような常温で固形の酸又はこれらの酸と該酸の塩との混合物を使用し、酸性側に変色域を有する種々な pH 指示薬を単独または複合で使用するのが好ましい。単独で用いる好適な例としてブロムクレゾールパープル、クロムフェノールレッド、ブロムクレゾールグリーン、コンゴレッド等が挙げられる。複合で用いる好適な例としては、ブロムクレゾールグリーン、ブロムキシレノールブルー、パラキシレノールブルーの組合せ、クロムフェノールレッド、ブロムフェノールレッド、フェノールレッド、クレゾールフタレインの組合せ、フェノールフタレイン、メチルレッド、ジメチルアミノアゾベンゼン、ブロムチモールブルー、チモールブルーの組合せ等を挙げることができる。単一の指示薬又は変色域は互いに異なるが相互に類似の色相にて変色する pH 指示薬群の場合は光反射率計を用いて尿素濃度を測定するのに有効である。光反射率計は試

料に一定の波長を有する光を照射して、反射してくる光の量を測定するもので、特定の波長における試料の程度を知ることができるため、あらかじめ定めた波長にセットすることによつて、 P^H 指示薬の発色の度合を個人差なしで測定することができる。一方、複合 P^H 指示薬の中でも例えば前述した通りフェノールフタレイン、メチルレッド、ジメチルアミノアゾベンゼン、ブロムチモールブルー、チモールブルーを複合して用いるBogeoの万能指示薬或はKolthoffの万能指示薬等に代表される広い範囲の P^H に就つて変色するものは、肉眼で尿素濃度を測定する場合に特に有利である。すなわち万能指示薬では赤～橙～黄～緑～青の様に P^H に応じて変色するので、肉眼で判定するのに好都合である。これらの P^H 指示薬系は、天然及びフィルム形成可能な重合体をバインダーとして配合して透明な担体シート(3)上に塗布される。特に好適なバインダーは酢酸セルロース、ポリビニルブチラール、エチルセルロースのような非水溶性のフィルム形成重合体であり、 P^H 指示薬の

均一な塗布と変色の均一性に対して有効である。さらに変色の均一性に有効に働く物質としてポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリエチレングリコール、グリセリン等の湿潤剤を加えることも重要である。

さて、本発明に係る尿素分析用具は、上述の如き各素材から組み立てられているが、図示(第1図～第3図)のものはこれらプレート(1)や担体(3)を片面粘着テープ(4)で包み込んでコンパクトで堅固につくられている。これをより具体的に説明すると、まずプレート(1)は、30mm角、厚さ3mmの合成樹脂板で、中央に直径6mmの試料穴(透孔)(5)を設けている。試料穴(5)には、ウレアーゼおよびアルカリ側に緩衝能力を有する緩衝剤系をあらかじめ吸水性担体に含浸し乾燥させて直径5.5mmに打ち抜いたタブレット(6)が挿入されている。ガス透過性の膜(2)は、巾約10mm長さ30mmのガス透過性薄膜で、中央に6mmの孔を有する両面粘着テープ(8)によりプレート(1)に密着されている。またこの両面粘着テープ(8)は、その両側部にかい

て、透明な担体(3)とプレート(1)を密着させるのに役立つ。また、片面粘着テープ(4)は、両面粘着テープ(8)で一体化されているプレート(1)や担体(3)を更に堅固に且つガス洩れのないように包み込むもので、担体(3)の指示薬層(7)の変色を測定するための測定窓用孔(41)を透設してある。更にこのテープ(4)には、試料穴開閉装置用の切込み(42)を備えており、これが試料穴(5)の密封装置(9)としても使用される。もつとも、この片面粘着テープ(4)は省略して他の密封装置を用いるとか、テープ(4)を密封装置としてのみ使用するようにしてもよい。

測定に際しては、切込み(42)に沿つて密封装置(9)としての粘着テープを剥がし、試料穴(5)中に収納してある吸水性担体よりなるタブレット(6)に試料を滴下し、直ちに粘着テープで密封する。吸水性担体は試料を吸収し、試料中の尿素は、予め吸水性担体に含浸させてあるウレアーゼによつて加水分解されアンモニアガスとなる。発生したアンモニアガスと水蒸気は、ガス透過性の膜(2)を通

し、アンモニアガスはつづいて担体(3)上の指示薬に触れ、最終的には試料中の尿素量に対応する指示薬の変色を生じさせる。尚、試料中の水、揮発性物質は上記膜(2)を通過しないので、指示薬は血球、水その他のものの影響はまったく受けず、その変色はアンモニアガスのみにより生起されるものである。しかし、その変色の程度を、第2図A方向から眺めて色見本と比較するか、または光反射率計で反射率を測定し、尿素濃度と光反射率の検量線を予め作成しておくことにより、光反射率計により容易に試料中の尿素濃度を知ることができる。

次に、本発明を一層よく理解させるために実施例(分析用具の製造および測定)を掲げるが、本実施例によつて本発明を制限するものではない。

実施例 1

光反射率測定用尿素分析用具の製造

A) 準備

(a) 吸水性担体

15.0平方の濾紙(東洋濾紙製φ1026)

を下記の組成の溶液で含浸し、55℃の熱風で乾燥した後、直径5.5mmの円板に打ち抜く。

ウレアーゼ (15IU/mg)	0.5 g
EDTA・2Na	2.5 g
triton X-100	1 g
1.0Mトリス緩衝液 (pH8.5)	100 ml

(b) 指示薬系とその担体

ポリエステルシート〔東レ製、厚さ0.125mm〕に下記の組成の溶液を塗布し（塗布厚0.25mm）、40℃の熱風で乾燥した後、30mm角に切断する。

ブロムクレゾールグリーン	0.4 g
グリセリン	1 g
エタノール	8 g
1.0Mクエン酸緩衝液 (pH3.0)	0.3 ml
アセトン	100 ml

(c) ガス透過性の膜

ポリエチレンシート〔復水化学工業製、商品名「セルポア」厚さ0.05mm〕を幅10mm長さ30mmに切断する。

(d) プレート

ポリスチレン樹脂を下記のように成型する。

30mm角
厚さ3mm
中央に直径6mmの貫通穴

(e) 両面テープ

両面テープ〔日東電工製 #532〕を30mmに切断し、中央に直径6mmの孔を設ける。

(f) 密封用テープ

粘着テープ〔ソニーケミカル製 #475〕を第3図符号4で示すように加工する。

B) 組み立て（第2図、第3図参照）

密封用テープ(4)、指示薬系の担体(1)（指示薬の塗布面を上にする）、ガス透過性の膜(2)、両面テープ(3)、プレート(1)をこの順に重ねる。次に吸収性担体タブレット(5)を試料穴(6)に挿入する。最後に密封用テープ(4)で全体を覆う。

C) 検量線の作成

密封用テープの一部(4)を切れ目に沿って剥がし、試料穴(6)に尿素水溶液20μlを滴下し、

直ちに試料穴を密封用テープで密封する。15分後、分析用具の下部より（第2図Aの方向）光反射率計（測定波長620nm）で指示薬層の光反射率を測定する。種々の濃度の尿素水溶液を本分析用具の試料として用いた結果表1のとおりであった。

表1

尿素水溶液 (尿素mg/ml)	光反射率%
0	9.2
2.0	8.5
4.0	7.2
8.0	5.3
16.0	3.1
24.0	1.9
32.0	1.2
40.0	0.8

表1に基づいて作成した尿素濃度と光反射率の検量線を第4図に示す。

実施例 2

目視測定用尿素分析用具と比色法の製造

A) 準備

(a) 吸収性担体

実施例1と同じ

(b) 指示薬系とその担体

ポリエステルシート〔東レ製、厚さ0.125mm〕に下記の組成の溶液を塗布し（塗布厚0.25mm）、40℃の熱風で乾燥した後、30mm角に切断する。

フェノールフタレイン	20 mg
メチルレッド	40 mg
ジメチルアミノアゾベンゼン	60 mg
ブロムチモールブルー	80 mg
チモールブルー	100 mg
グリセリン	1 g
エタノール	8 g
0.1Mクエン酸水溶液	0.5 ml
エタノール	100 ml

(c) ガス透過性の膜

ポリプロピレン膜〔ポリプロステックス製、商品名ジュラガード厚み0.02mm〕を幅10mm、長さ30mmに切断する。

(d) プレート、(e) 両面テープ、(f) 密封用テープ

実施例1と同じ。

B) 組み立て

実施例1と同じ

C) 比色表の製造

密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に尿素水溶液20μlを滴下し、直ちに試料穴を密封用テープで密封する。15分後、分析用具の下部より(第2図Aの方向)肉眼で指示薬系の色調を観測する。

測定結果を表2に示す。

表 2

尿素水溶液(尿素mg/dl)	色 調
0	バラ色
20	バラ色
50	赤 橙
100	橙
150	黄
200	黄 緑
300	緑
400	緑 青

市販の絵の具を調合したものを面用紙に塗り、乾燥させて、上記にてそれぞれの尿素濃度に対応して変色した指示薬系の色調と同じ色調を有する色紙を作る。次に色紙を直径6mmに打ち抜き、1.5cm×6cmの紙に、対応する尿素濃度の順に貼る。そして色紙のそれぞれの対応尿素濃度を記載する。

実施例 3

唾液中の尿素の測定

(a) 実施例1にて製造した分析用具による測定

分析用具の密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に唾液を20μl入れ、密封用テープで試料穴を密封する。15分後、光反射率計にて光反射率を測定し、第4図の検査線より唾液中の尿素濃度を得る。

(b) 実施例2にて製造した分析用具と比色表による測定

分析用具の密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に唾液を20μl入れ、密封用テープで試料穴を密封する。15分後、指示薬系の色調を眺め、比色表と比べて唾液中の尿素濃度を得る。

(c) 唾液中の尿素濃度をクレアゼーインドフェノール法で測定し、対照法による測定値とする。

(a)、(b)、(c)にて測定した結果を表3に示す。

表 3

試料	実施例1にて製造した分析用具による測定値(mg/dl)	実施例2にて製造した分析用具による測定値(mg/dl)	クレアゼーインドフェノール法による測定値(mg/dl)
1	18	20	21
2	24	20	26
3	51	50	55
4	80	75	72
5	123	125	109
6	157	150	154
7	191	200	188
8	207	200	212

唾液中の尿素濃度は、水溶液の尿素濃度の測定と同一の手技、同一の分析用具で測定することができる。

実施例 4

血液中の尿素の測定

(a) 実施例1にて製造した分析用具による測定
分析用具の密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に血液を20μl入れ、密封する。15分後、光反射率計にて光反射

率を測定し、第4図の検量線より血液中の尿素濃度を得る。

- (b) 実施例2にて製造した分析用具と比色表による測定

分析用具の密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に血液を20 μ l入れ、密封用テープで試料穴を密封する。15分後、指示薬系の色調を眺め、比色表と比べて血液中の尿素濃度を得る。

- (c) 血液中の尿素をウレアーゼ・ネスラー法で測定し、対照法による測定値とする。

(a)、(b)、(c)にて測定した結果を表4に示す。

表4

試料No.	ヘマトクリット値(%)	実施例1にて製造した分析用具による測定値(mg/dl)	実施例2にて製造した分析用具による測定値(mg/dl)	ウレアーゼ・ネスラー法による測定値
11	63	15	20以下	24
12	42	33	35	37
13	49	46	50	56
14	47	98	100	103
15	36	124	125	131
16	42	260	250	271
17	14	314	300	322
18	15	351	350	360

血液中の尿素濃度は、ヘマトクリット値に影響なく、水溶液中の尿素濃度と同一の手技、同一の分析用具で正確に測定できることが、本実施例より確認できる。

実施例 5

血清中の尿素的測定

- (a) 実施例1にて製造した分析用具による測定
分析用具の密封用テープの一部を切れ目に

沿って剥がし、試料穴に血清20 μ lを入れ、密封用テープで試料穴を密封する。15分後、光反射率計にて指示薬系の反射率を測定し、第4図の検量線より血清中の尿素濃度を得る。

- (b) 実施例2にて製造した分析用具と比色表による測定

分析用具の密封用テープの一部を切れ目に沿って剥がし、試料穴に血液20 μ lを入れ、密封用テープで試料穴を密封する。15分後、指示薬系の色調を眺め、比色表と比べて血清中の尿素濃度を得る。

- (c) 血清中の尿素をウレアーゼ・インドフェノール法で測定し、対照法による測定値とする。

(a)、(b)、(c)にて測定した結果を表5に示す。

表5

試料No.	実施例1にて製造した分析用具による測定(mg/dl)	実施例2にて製造した分析用具による測定(mg/dl)	ウレアーゼ・インドフェノール法による測定(mg/dl)
21	14	20以下	12
22	34	30	32
23	47	50	45
24	63	70	57
25	108	100	111
26	132	125	138
27	198	200	212
28	324	350	317

血清中の尿素濃度は、水溶液中の尿素濃度の測定と同一の手技、同一の分析用具で正確に測定できることが、本実施例より確認できる。

このように本発明の分析用具は試料がどのような性状でも水溶液中の尿素濃度を測定すると同一の手技、同一の分析用具で正確に試料中の尿素濃度を知ることができる。

以上本発明の好適な実施例について述べたが、

本発明の技術的思想の範囲内において種々の変更が加えられる。以下に実施例で示したものとちがええられる変更手段をいくつか挙げる。試料穴中に使用するアルカリ性 pH を保持する緩衝剤系としては、 pH 7.5~9.0 の範囲に緩衝能を有するものであればなんでもよい。 pH 指示薬系は酸性側に变色域を有するものがすべて使用できる。 pH 指示薬系のバインダーは天然及び合成のフィルム形成重合体であればなんでもよく、この他に所望により界面剤、界面活性剤を試料穴中のウレアーゼと緩衝剤系に、また pH 指示薬系に加えることも可能である。さらに pH 指示薬系には少量の pH 測定剤を必要に応じて加えることも可能である。

以上詳述したように本発明は①測定操作が簡易で②特異性が高く③広い測定範囲を有し④わずかの検体量で⑤短時間で尿素窒素量が測定できる尿素分析方法とその用具を提供するもので、特に、腎機能の指標となる唾液、血液の両方の検体中の尿素濃度を同一の手技、同一の用具で測定できることは臨床検査上絶大な意義を有する。

4. 図面の簡単な説明

第1図から第3図までは本発明に係る尿素分析用具の1例を示すもので、第1図は斜視図、第2図は第1図におけるX-X線断面図、第3図は分解斜視図である。第4図は実施例1で製造した分解用具の光反射率と尿素濃度の検量線を示す。

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1 プレート | 2 ガス透過性の膜 |
| 3 指示薬の担体 | 4 片面粘着テープ |
| 5 試料穴 | 6 タブレット |
| 7 指示薬層 | 8 両面粘着テープ |
| 9 密封装置 | 41 測定応用孔 |

特許出願人 株式会社京都第一科学
代理人 弁理士 水田 久 喜

